



读书报告

汇报人：米佳丽 时间：2019年11月17日



Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aquaculture



日粮中添加谷氨酸对建鲤肉品质、抗氧化防御及脂质代谢和肌源性调节相关基因表达的影响

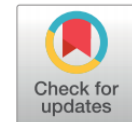
Effects of dietary glutamate supplementation on flesh quality, antioxidant defense and gene expression related to lipid metabolism and myogenic regulation in Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)

Ye Zhao^{a,b,1}, Jin-Yang Li^{a,1}, Long Yin^a, Lin Feng^{b,c}, Yang Liu^{b,c}, Wei-Dan Jiang^{b,c}, Pei Wu^b, Juan Zhao^b, De-Fang Chen^a, Xiao-Qiu Zhou^{b,c,*}, Jun Jiang^{a,b,c,*}

^a College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

^b Animal Nutrition Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

^c Fish Nutrition and Safety Production University Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China



目录

CONTENT

NO.1 研究背景



NO.2 研究内容



NO.3 讨论与展望



NO.4 结论和思考

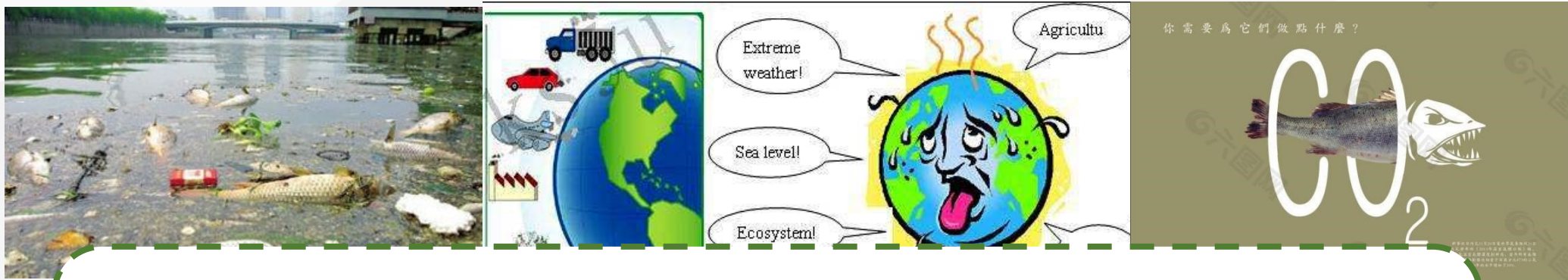




1

研究背景

研究背景



目前越来越多的证据表明，营养物质在改善鱼的肌肉生长和肉质方面起着重要作用。



鱼肉品质下降

研究背景

有研究证明，补充Glu可改善乌颊鱼的蛋白质利用率。

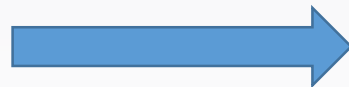


在猪中，饮食中添加味精L-谷氨酸盐(MSG)可改变骨骼肌中的脂质成分和肌纤维成分(Kong et al., 2015)

精氨酸可以通过降低草鱼幼鱼的氧化损伤和改善其抗氧化状态来改善其肉质。

提出问题：饲料中添加Glu是否对鱼类肌肉生长和肉质存在一定的影响呢？

研究背景



谷氨酸(Glu)是食物中含量最丰富的氨基酸之一，谷氨酸在新陈代谢和调节关键的生理过程中起关键作用(Brosnan and Brosnan, 2013)

建鲤是我国重要的淡水经济养殖鱼类之一(Jiansen et al., 1995), 每年产量超过100万吨。由于其肉质含量高、味美、营养价值高、价格低廉, 深受消费者欢迎, 市场需求量大(Li et al., 2017)。

01

研究背景



肌肉生长及质构特性



脂肪代谢能力



肌肉氧化应激能力

肌肉生长是一个复杂的动态过程，包括**新肌纤维的补充(增生)**和**现有肌纤维的生长(增粗)**(Greer-Walker, 1970)。肌肉的增生和增粗是由一系列转录因子控制的，如肌源性调节因子(myogenic regulatory factors, MRFs)。营养物质是如何通过这些调节因子对鱼类肌肉生长进行调节的，目前仍然缺乏文献记载。

鱼肉的肌肉**脂肪含量**是一个关键特征，它直接影响着鱼肉的**营养质量和感官质量**(Lefevre et al., 2015)。许多关键的酶和转录因子参与脂质代谢过程。

鱼类肌肉中活性氧的产生会与脂质和蛋白质相互作用，从而导致氧化应激(Tokur and Korkmaz, 2007)。鱼类肌肉**容易产生氧化应激**，导致肌肉质量下降(Deng et al., 2016)。最近的研究表明，营养素可以通过**减少氧化损伤**来改善肉的质量(Deng et al., 2016;)。然而，饮食中添加谷氨酸对鱼类肌肉抗氧化状态的影响却很少被关注。



2

研究内容

2.1

Fish rearing conditions and feeding trials

Table 1
Composition and nutrients content of basal diet.

Diet	Glu supplementation level, g kg ⁻¹ diet				
	0	4	8	16	32
Formulation (g kg ⁻¹ diet)					
Soybean meal	290	290	290	290	290
Canola meal	220	220	220	220	220
Corn gluten meal	60	60	60	60	60
Fish meal	60	60	60	60	60
Wheat flour	257	253	249	241	225
Soy oil	50	50	50	50	50
Vitamin premix ^a	15	15	15	15	15
Trace mineral premix ^b	25	25	25	25	25
Choline chloride	10	10	10	10	10
Ca (H ₂ PO ₄) ₂	2	2	2	2	2
Lysine	6	6	6	6	6
Methionine	2	2	2	2	2
Threonine	3	3	3	3	3
L-Glutamate	0	4	8	16	32
Total	1000	1000	1000	1000	1000
Analyzed chemical composition (g kg ⁻¹ dry matter)					
Crude protein	306.0	312.4	316.0	316.3	322.3
Crude lipid	60.9	61.9	61.5	60.1	60.0
Crude ash	70.6	71.4	73.1	70.4	69.9
Gross energy, (MJ kg ⁻¹)	17.54	17.47	17.39	17.25	17.16

将600条大小相近(平均初始体重 126.40 ± 0.21 g)的鱼随机分配到15个 $2 \times 1.5 \times 1$ m的池塘中。

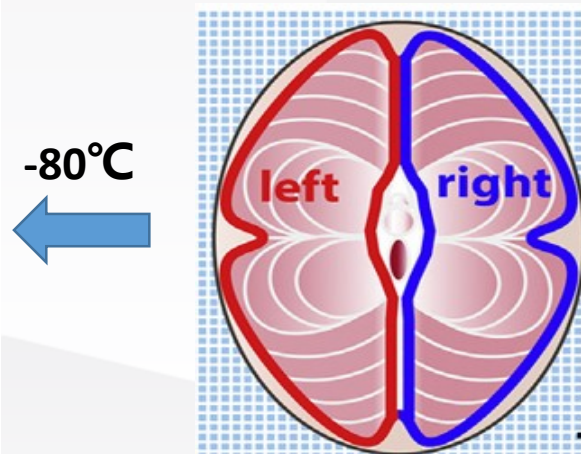
每种饲料配方设置三个平行, 每天07:20、13:20和18:20喂三次鱼, 喂养63d。

2.2

Sample collection and analysis

英文简写	中文全称	作用
PCO	蛋白质羰基	蛋白质氧化指标
MDA	丙二醛	脂质过氧化指标
TSOD	总超氧化物歧化酶	抗氧化
CAT	超氧化氢酶	抗氧化
GR	谷胱甘肽还原酶	抗氧化
GSH	谷胱甘肽	抗氧化
SAS	超氧阴离子清除	抗氧化
HRS	羟基自由基清除	抗氧化

肌肉质量参数的测定



测定肌肉粗蛋白含量、脂质含量、pH值、剪切力、蒸煮损失、肌肉水分、羟脯氨酸含量、氨基酸含量、脂肪酸含量、乳酸含量。

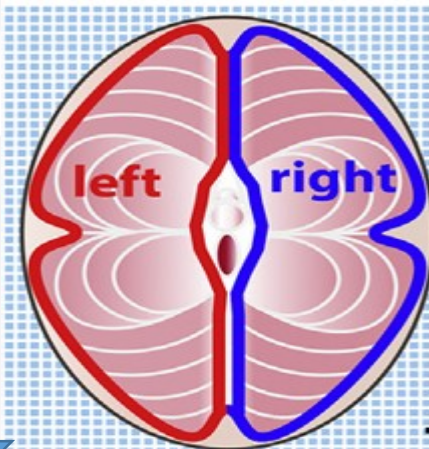
2.2

Sample collection and analysis

抗氧化酶基因转录水平的影响

英文简写	中文全称	作用
CuZnSOD	铜-锌超氧化物歧化酶	抗氧化
CAT	超氧化氢酶	抗氧化
GPX1a	谷胱甘肽过氧化物酶 1 a	清除活性氧, 抗氧化
GPX1b	谷胱甘肽过氧化物酶 1 b	清除活性氧, 抗氧化
GST	谷胱甘肽s-转移酶	清除活性氧, 抗氧化
GR	谷胱甘肽还原酶	清除活性氧, 抗氧化
Nrf2	核因子E2相关因子	氧化应激关键转录因子
Keap1	Kelch2样ECH2相关蛋白	Nrf2的活性
TOR	雷帕霉素靶蛋白	是于蛋白质代谢相关的信号因子

实时定量PCR



脂质代谢、肌肉生长相关基因转录水平的影响

英文简写	中文全称	作用
FAS	脂肪酸合成酶	合成脂肪酸
ACC	乙酰辅酶A羧化酶	合成脂肪酸
LPL	脂蛋白脂肪酶	甘油三酯的分解
HSL	激素敏感性脂肪酶	脂肪分解的限速酶
Mrf4	肌原性调节因子	主要作用于细胞分化
MyoD	肌原性调节因子	主要作用于肌细胞增殖
Mrf5	肌原性调节因子	主要作用于肌细胞增殖
MyoG	肌生成素	主要作用于细胞分化
MSTN	肌生成抑制素	抑制肌肉生成

3.1

Muscle flesh quality

Table 3

Relative shear force (N), cooking loss (%), hydroxyproline content (mg g^{-1} tissue), pH, lactate content (mmol g^{-1} protein), and muscle composition of Jian carp fed diets supplemented with graded levels of Glu for 9 weeks.

	Glu supplementation level, g kg^{-1} diet				
	0	4	8	16	32
Relative shear force	$2.19 \pm 0.11\text{a}$	$2.51 \pm 0.08\text{b}$	$2.54 \pm 0.10\text{b}$	<u>$2.58 \pm 0.07\text{b}$</u> ↑	$2.44 \pm 0.04\text{ab}$
Cooking loss ↓	$17.46 \pm 0.57\text{b}$	$16.80 \pm 0.65\text{ab}$	$15.47 \pm 0.33\text{a}$	$15.94 \pm 0.48\text{ab}$	$16.18 \pm 0.65\text{ab}$
Hydroxyproline	$0.39 \pm 0.02\text{a}$	$0.47 \pm 0.03\text{ab}$	$0.50 \pm 0.03\text{b}$	<u>$0.51 \pm 0.06\text{b}$</u> ↑	$0.43 \pm 0.03\text{ab}$
pH ↑	$6.45 \pm 0.03\text{a}$	$6.52 \pm 0.04\text{ab}$	$6.62 \pm 0.04\text{b}$	$6.61 \pm 0.04\text{b}$	$6.47 \pm 0.05\text{a}$
Lactate content ↓	$1.86 \pm 0.05\text{b}$	$1.83 \pm 0.05\text{b}$	$1.70 \pm 0.04\text{a}$	$1.68 \pm 0.01\text{a}$	$1.83 \pm 0.03\text{b}$
Moisture	77.83 ± 0.50	78.69 ± 1.32	78.47 ± 0.15	78.72 ± 0.49	77.70 ± 0.99
Protein	$15.32 \pm 0.40\text{a}$	$15.50 \pm 0.18\text{a}$	$16.62 \pm 0.68\text{b}$	<u>$16.83 \pm 0.17\text{b}$</u>	$16.78 \pm 0.24\text{b}$
Lipid	$3.82 \pm 0.15\text{a}$	$4.13 \pm 0.08\text{b}$	<u>$4.21 \pm 0.12\text{b}$</u>	$4.18 \pm 0.06\text{b}$	$4.07 \pm 0.11\text{ab}$
Ash	1.15 ± 0.02	1.16 ± 0.08	1.15 ± 0.05	1.12 ± 0.08	1.13 ± 0.12

Values are means \pm SE. Mean values within the same row with different superscripts are significantly different ($P < .05$).

3.1

Muscle flesh quality

氨基酸含量的变化

Table 4

Amino acid composition of muscle in Jian carp fed diets supplemented with graded levels of Glu for 9 weeks ($\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ dry weight).

	Glu supplementation level, g kg^{-1} diet				
	0	4	8	16	32
Aspartic acid	$8.01 \pm 0.39\text{a}$	$7.94 \pm 0.30\text{a}$	$8.17 \pm 0.26\text{a}$	$8.83 \pm 0.15\text{b}$	$7.91 \pm 0.35\text{a}$
Glutamate	$13.43 \pm 0.52\text{a}$	$13.84 \pm 0.24\text{ab}$	$14.34 \pm 0.26\text{bc}$	$14.93 \pm 0.26\text{c}$	$14.15 \pm 0.30\text{b}$
Serine	3.01 ± 0.41	3.24 ± 0.38	3.00 ± 0.53	3.27 ± 0.35	2.97 ± 0.31
Glycine	$3.61 \pm 0.23\text{a}$	$3.68 \pm 0.24\text{ab}$	$3.75 \pm 0.28\text{ab}$	$4.18 \pm 0.32\text{b}$	$3.85 \pm 0.34\text{ab}$
Alanine	4.21 ± 0.39	3.95 ± 0.32	4.20 ± 0.45	3.98 ± 0.30	4.19 ± 0.39
Cystine	0.46 ± 0.07	0.42 ± 0.09	0.44 ± 0.10	0.45 ± 0.06	0.42 ± 0.08
Tyrosine	2.56 ± 0.20	2.96 ± 0.26	2.90 ± 0.41	2.93 ± 0.31	2.88 ± 0.29
Threonine	2.95 ± 0.31	3.20 ± 0.48	3.10 ± 0.43	3.43 ± 0.26	2.96 ± 0.23
Valine	3.85 ± 0.29	4.04 ± 0.27	4.17 ± 0.40	3.99 ± 0.41	4.14 ± 0.54
Methionine	2.06 ± 0.18	2.11 ± 0.35	2.12 ± 0.35	2.05 ± 0.30	2.00 ± 0.14
Isoleucine	3.14 ± 0.29	3.21 ± 0.34	3.76 ± 0.80	3.44 ± 0.48	3.28 ± 0.39
Leucine	5.13 ± 0.41	5.09 ± 0.47	5.40 ± 0.44	5.45 ± 0.46	5.23 ± 0.32
Phenylalanine	3.02 ± 0.38	3.24 ± 0.39	3.35 ± 0.41	2.86 ± 0.13	3.02 ± 0.33
Lysine	6.60 ± 0.64	6.67 ± 0.50	7.19 ± 0.28	7.05 ± 0.38	6.90 ± 0.31
Histidine	1.62 ± 0.21	1.72 ± 0.18	1.81 ± 0.18	1.91 ± 0.31	1.76 ± 0.07
Arginine	$4.27 \pm 0.39\text{a}$	$4.43 \pm 0.24\text{ab}$	$4.94 \pm 0.34\text{bc}$	$5.33 \pm 0.44\text{c}$	$5.17 \pm 0.23\text{c}$
ΣEAA	$32.64 \pm 0.18\text{a}$	$33.69 \pm 0.32\text{ab}$	$35.83 \pm 0.80\text{c}$	$35.51 \pm 1.66\text{c}$	$34.46 \pm 0.94\text{bc}$
ΣA	$67.91 \pm 0.55\text{a}$	$69.72 \pm 0.35\text{ab}$	$72.63 \pm 0.76\text{cd}$	$74.09 \pm 1.23\text{d}$	$70.83 \pm 1.79\text{bc}$

补充了16g / kg Glu的鱼的肌肉中天门冬氨酸、谷氨酸、甘氨酸和精氨酸含量较高。

3.1

Muscle flesh quality

脂肪酸含量的变化

脂肪酸

不饱和脂肪酸
(UFA)

饱和脂肪酸
(SFA)

单一不饱和
脂肪酸(MUFA)

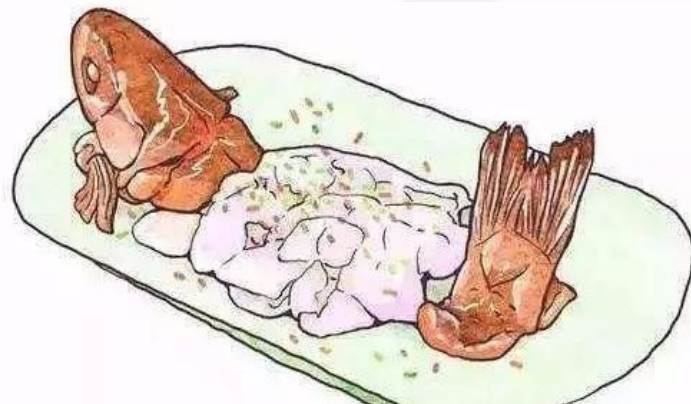
多不饱和脂
肪酸(PUFA)

部分饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸都随着Glu的添加而逐渐增加。**特别值得注意的是**，在本研究中，我们首次观察到饮食中添加Glu可以提高建鲤肌肉中相对**DHA和EPA**这两个不饱和脂肪酸含量，这可能会增强建鲤的保健作用。

小结1



Glu增加了肌肉蛋白质含量、脂肪含量、pH值、剪切力、持水能力、提高了鱼肉中羧脯氨酸含量，改善了鱼肉品质。



3.2

Muscle lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status

Table 6

Effects of dietary Glu supplementation on malondialdehyde (MDA, nmol mg⁻¹ protein), protein carbonyl (PCO, nmol mg⁻¹ protein), superoxide dismutase (T-SOD, U mg⁻¹ protein), catalase (CAT, U mg⁻¹ protein), glutathione peroxidase (GPx, U g⁻¹ protein), glutathione S-transferase (GST, U mg⁻¹ protein), glutathione reductase (GR, U g⁻¹ protein), reduced glutathione (GSH, μmol g⁻¹ protein), superoxide anion scavenging ability (SAS, U g⁻¹ protein), hydroxyl radical scavenging ability (HRS, U mg⁻¹ protein) in Jian carp muscle.

	Glu supplementation level, g kg ⁻¹ diet				
	0	4	8	16	32
MDA	0.50 ± 0.13b	0.34 ± 0.07a	0.31 ± 0.07a	0.33 ± 0.04a	0.31 ± 0.03a
PCO	1.53 ± 0.28b	1.29 ± 0.26ab	1.25 ± 0.18ab	1.03 ± 0.16a	1.11 ± 0.16a
SOD	11.51 ± 0.86a	15.27 ± 1.35b	19.60 ± 2.78c	18.77 ± 1.34c	17.16 ± 1.80bc
CAT	8.59 ± 0.72	8.37 ± 1.18	9.65 ± 0.70	8.88 ± 1.73	8.80 ± 0.85
GPx	113.74 ± 15.26a	159.43 ± 20.49a	218.79 ± 21.80b	247.88 ± 40.20b	229.75 ± 31.99b
GST	11.08 ± 0.55a	19.47 ± 1.28b	25.12 ± 1.49c	22.78 ± 2.57bc	22.46 ± 2.10bc
GR	102.14 ± 2.35a	106.06 ± 3.29a	222.91 ± 18.78b	234.78 ± 25.14b	208.21 ± 24.01b
GSH	0.22 ± 0.04a	0.82 ± 0.09b	0.91 ± 0.22bc	1.15 ± 0.08c	1.05 ± 0.15bc
SAS	12.56 ± 0.74a	22.28 ± 3.64a	37.59 ± 9.99b	22.39 ± 3.23a	22.01 ± 3.54a
HRS	52.22 ± 0.84	49.41 ± 10.86	66.88 ± 2.43	66.57 ± 6.01	61.16 ± 6.23

Values are means ± SE. Mean values within the same row with different superscripts are significantly different ($P < .05$).

3.2

Muscle lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status

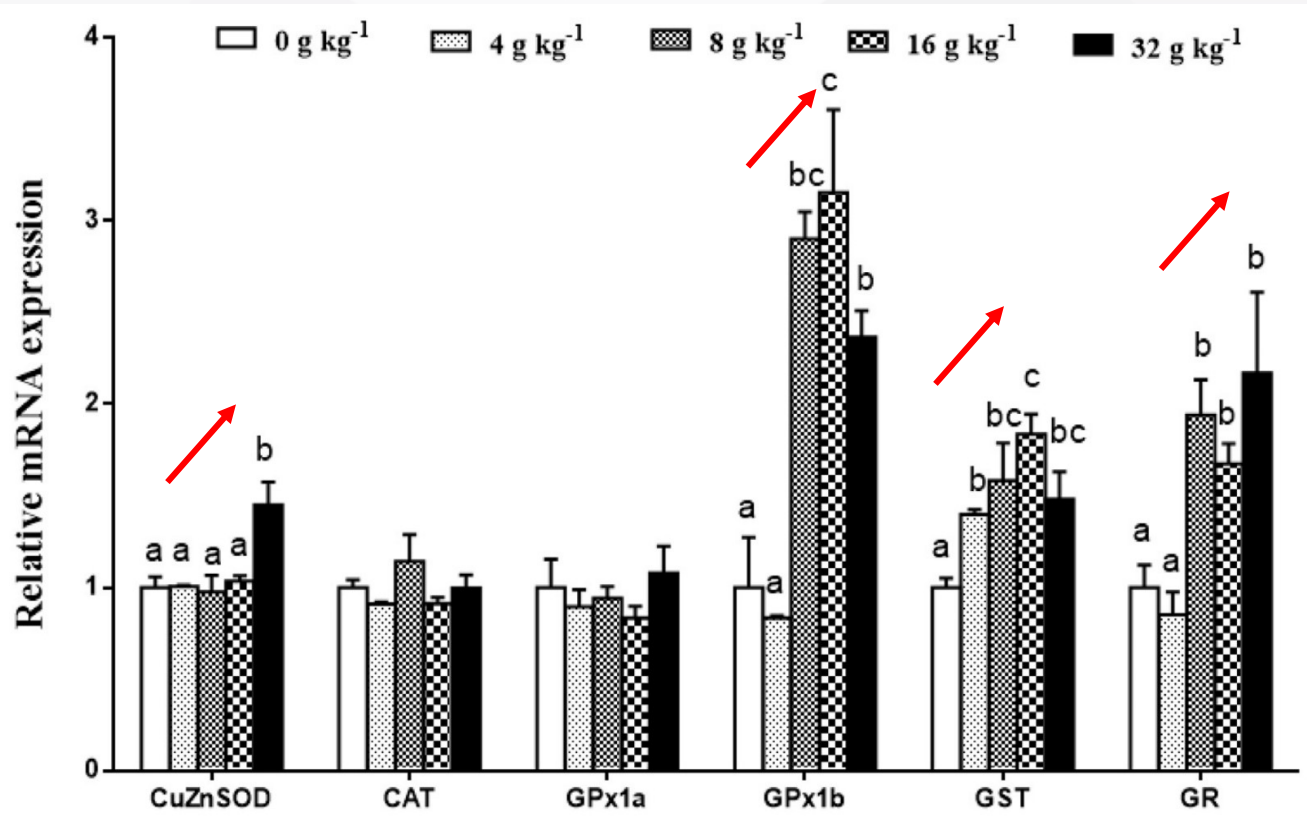


图1.添加不同水平Glu后肌肉中的Cu-Zn-SOD、CAT、GPx1a、GPx1b、GST、GR基因表达水平。

具有较高水平的谷氨酸肌肉中的*CuZnSOD* mRNA含量高于其他饮食水平。*GPx1b*和*GST*的表达在16 g/kg 日粮中随Glu水平的升高而升高，随后下降。*GR*的表达水平随谷氨酸水平的增加而显著升高，达到8g/kg之后趋于稳定。可见，补充一定量的Glu可以显著提高*CuZnSOD*、*GPx1b*、*GST*、*GR*基因表达水平都有显著提高，这与抗氧化酶活性表现出相似的模式。

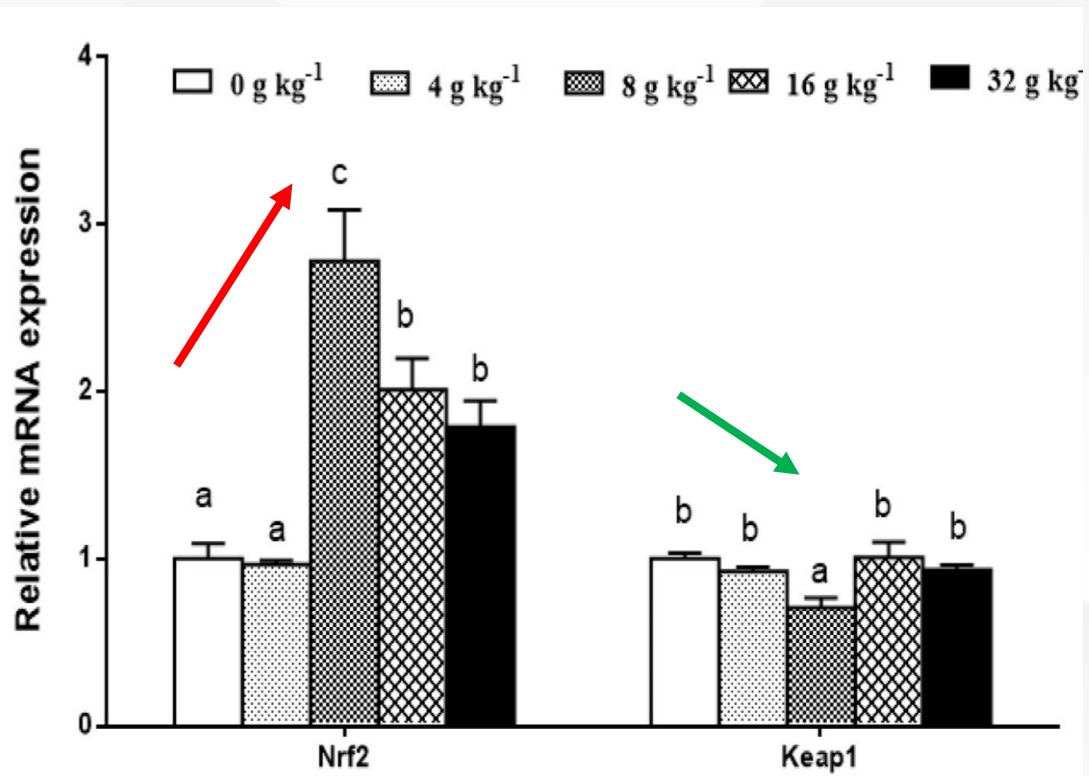
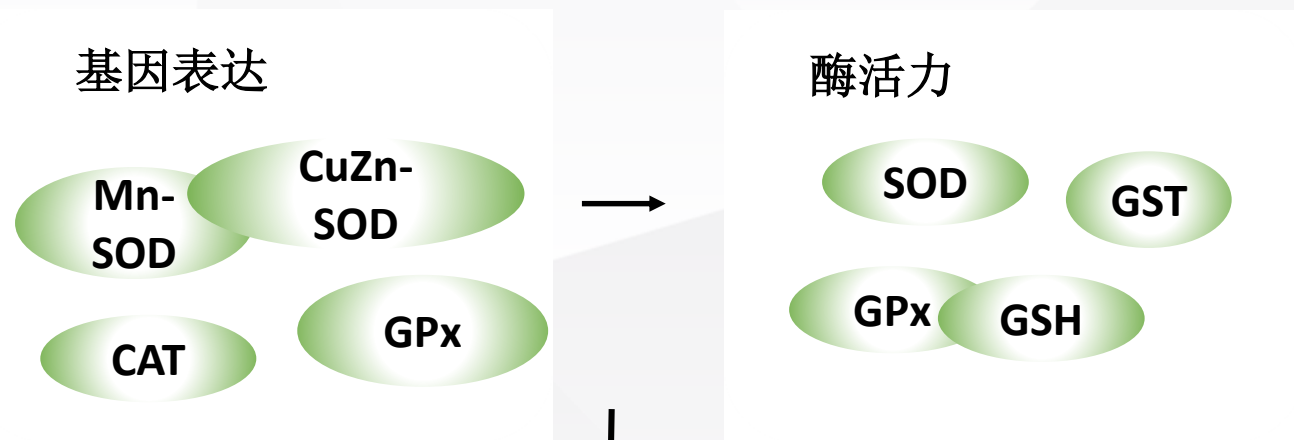
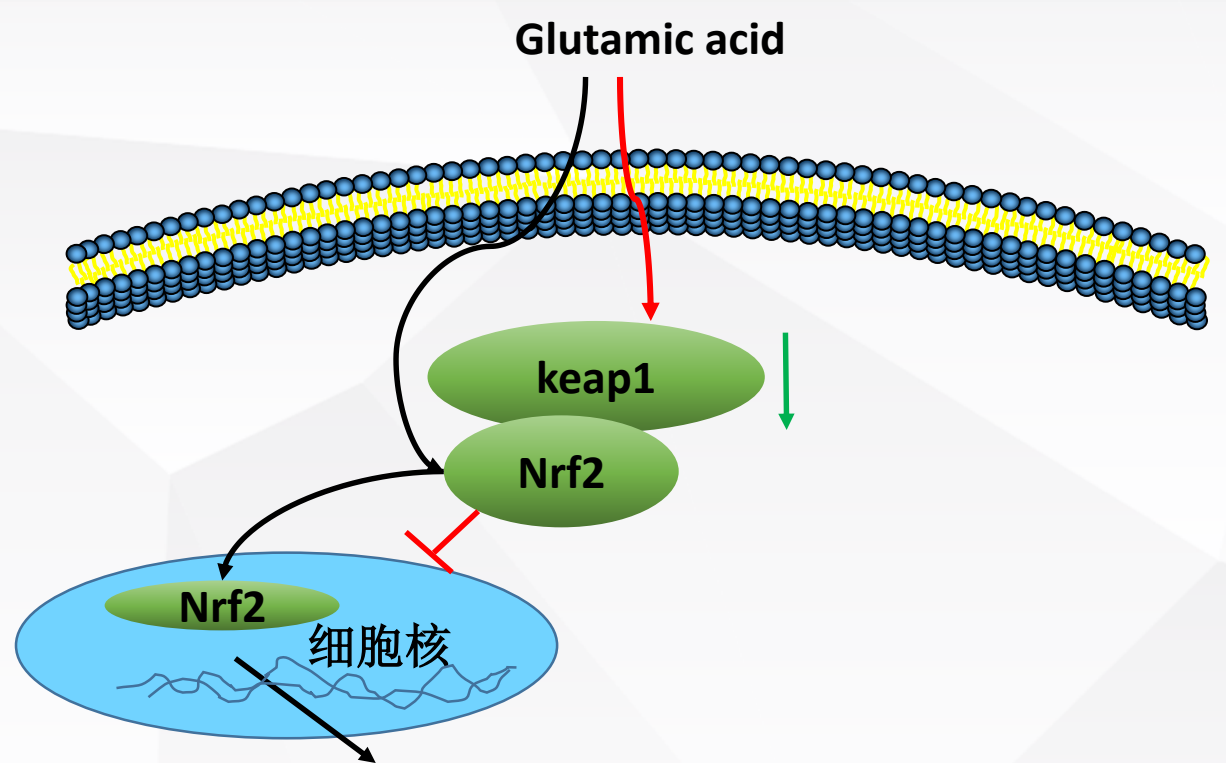


图2. 补充膳食Glu对Nrf2和keap1的影响



对氧化损伤进行保护

小结2

补充Glu可通过抑制蛋白质氧化、脂肪氧化，提高氧化酶活性等机制，从而抑制鱼类的氧化损伤，维持肌肉结构的完整性。

补充Glu可使*Nrf2*的mRNA水平升高，降低*Keap1* mRNA的表达。这些结果提示，Glu可能通过下调*Keap1*基因在鱼类中的表达，促进*Nrf2*核转位，增强抗氧化酶活力及相关基因的表达。

3.3

mRNA levels of genes related to myogenic regulation

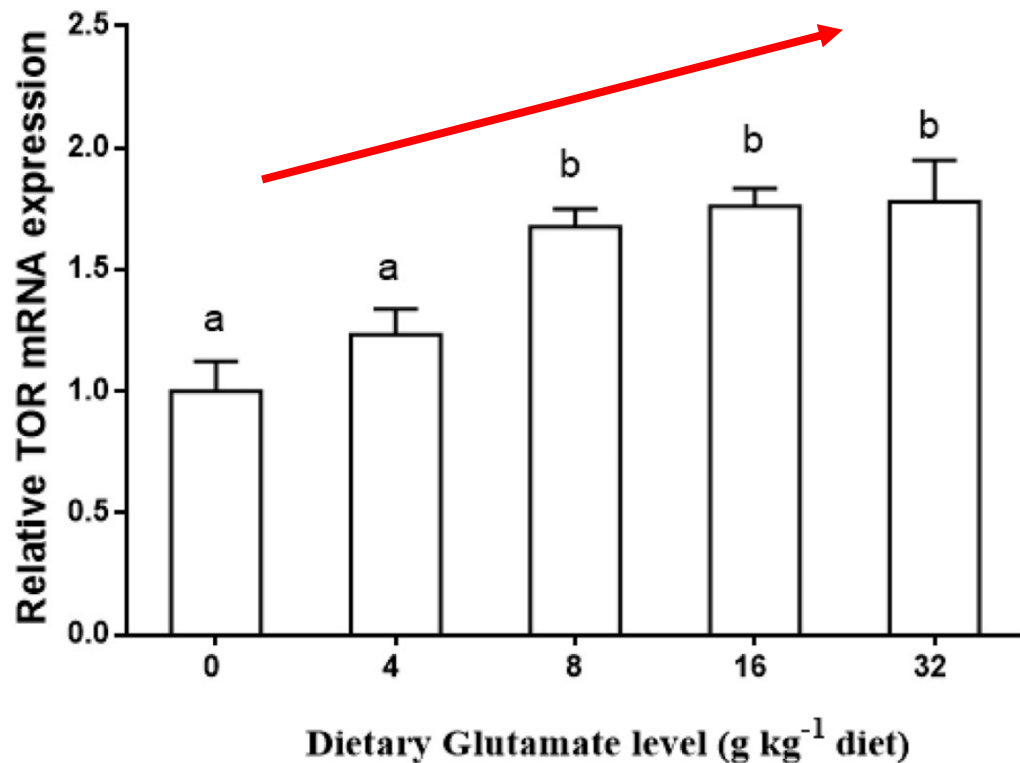
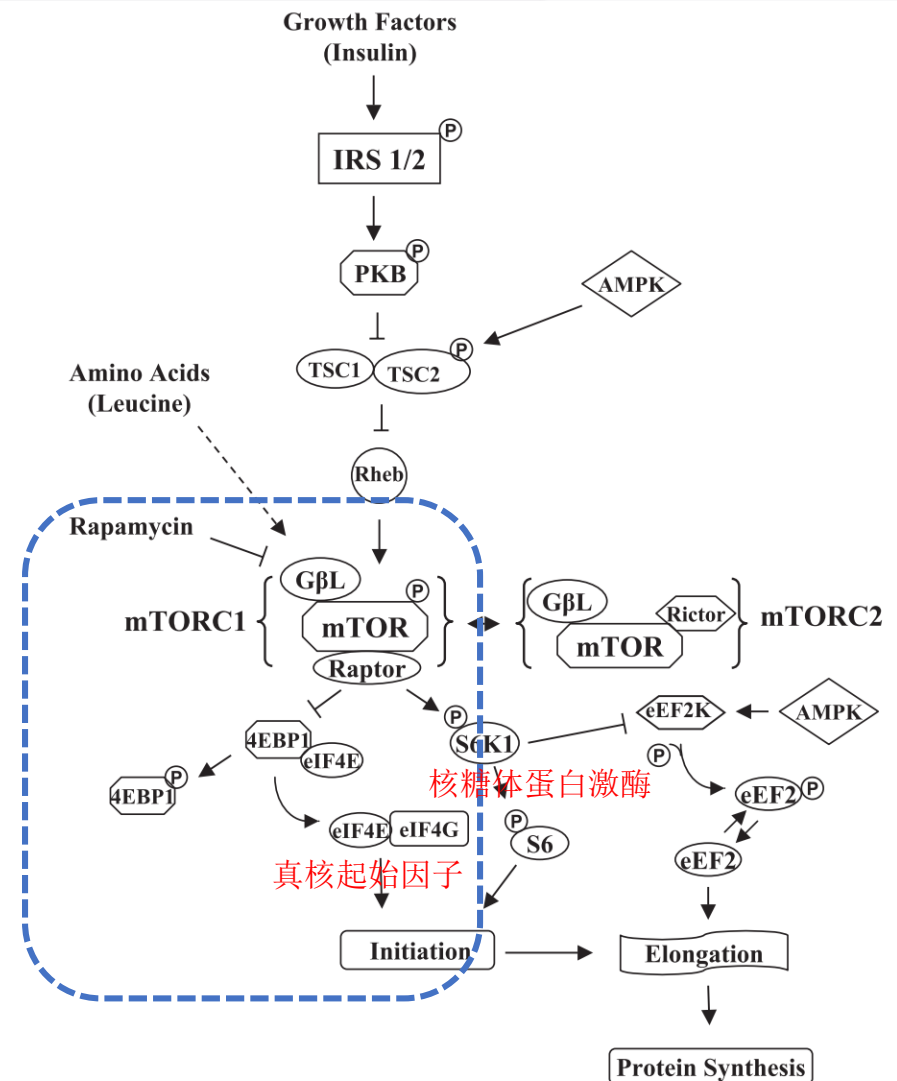


Fig. 3. Effects of dietary Glu supplementation (g kg⁻¹ diet) on TOR (target of rapamycin) gene expressions in muscle of Jian carp. Values are means \pm SEM, of three replicates with six fish in each replicate, and different letters denote significant difference ($P < .05$).



氨基酸介导的TOR信号通路参与蛋白质合成

3.3

mRNA levels of genes related to myogenic regulation

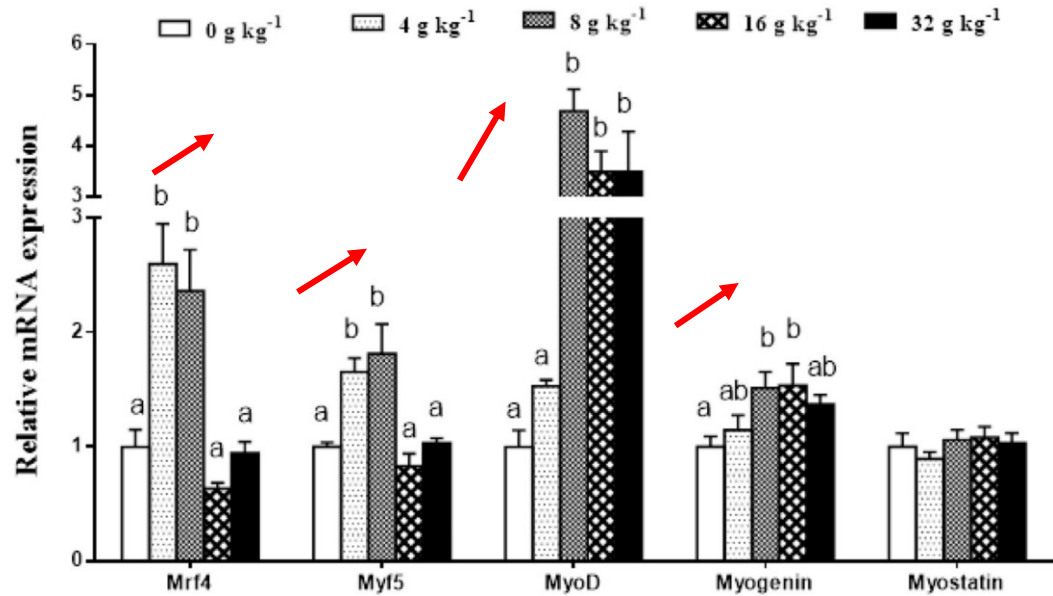
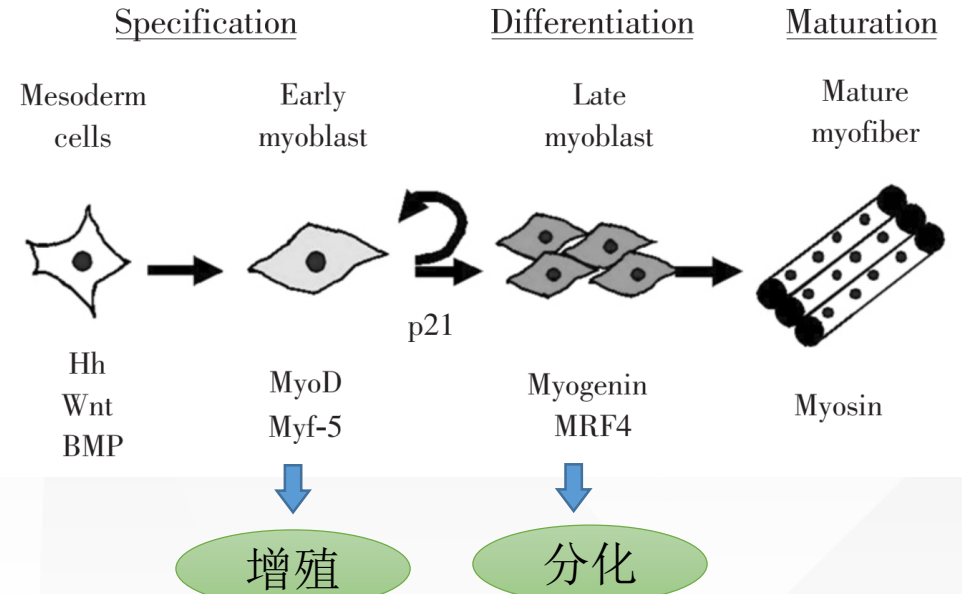


图4.补充膳食Glu对*Mrf4*(肌源性调节因子) 4)、*Myf5* (myogenic factor 5)、*MyoD* (myoblast determine protein)、*Myogenin*、*Myostatin*基因在建鲤肌肉中的表达的影响。



肌肉发育过程及其调节因子

结果表明：饮食中添加谷氨酸可上调*Myf5*、*MyoD*、*Mrf4*、*Myogenin* mRNA的表达，提示谷氨酸可调节建鲤鱼的肌肉发育。Glu对肌生成抑制素无下调作用。

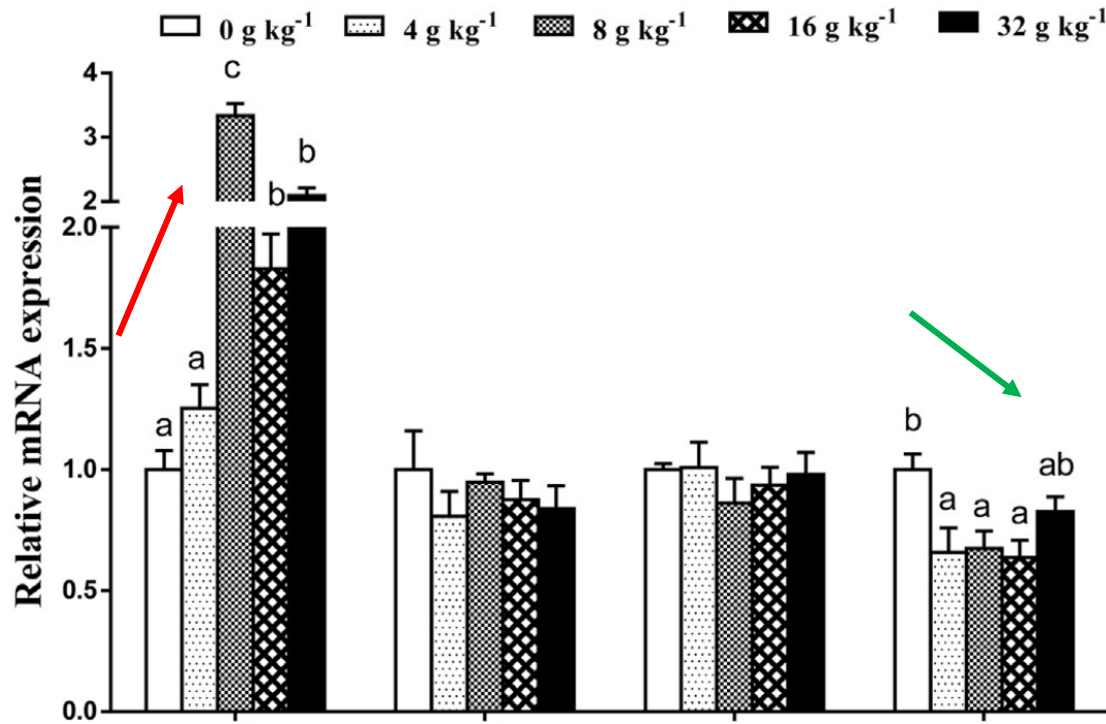
小结3

Glu的补充增加了*TOR* mRNA的表达。提示添加适量谷氨酸可以促进的肌肉蛋白质含量，这可能与增强了*TOR*的转录有关。

Glu的补充可上调*Myf5*、*MyoD*、*Mrf4*、*MyoG* mRNA的表达，提示适量谷氨酸可调节建鲤鱼的肌肉发育。但Glu对肌生成抑制素无下调作用。

3.4

mRNA levels of genes related to lipid metabolism in muscle



脂肪酸合成酶 FAS 乙酰辅酶A羧化酶 ACC 激素敏感性脂肪酶 HSL 脂蛋白脂肪酶 LPL

Fig. 5. Effects of dietary Glu supplementation (g kg^{-1} diet) on FAS (fatty acid synthase), ACC (acetyl-CoA carboxylase), HSL (hormone-sensitive lipase), and LPL (lipoprotein lipase) gene expressions in muscle of Jian carp. Values are means \pm SEM, of three replicates with six fish in each replicate, and different letters denote significant difference ($P < .05$).

如图所示，当Glu水平达到8g/kg时，FAS mRNA表达增加，但对ACC和HSL的表达无明显影响。补充了4, 8和16g/kg Glu 的肌肉LPL mRNA水平明显低于对照组，而HSLmRNA水平则无明显影响。

脂肪酸合成

脂肪分解

小结4

添加适量谷氨酸可增加肌肉中 *FAS* mRNA 水平，Glu降低了肌肉 *LPL* 基因的相对表达。
提示添加谷氨酸可以促进脂肪积累。



3

讨论

讨论与展望

- 1.谷氨酸促进的肌肉蛋白含量可能与鱼体内TOR转录的增加有关。
- 2.Glu增强肌肉中 *Myf5*、*MyoD*、*Mrf4*、*myogenin* 基因表达可能与GSH有关。Glu调控*Myf5*、*MyoD*、*Mrf4*和肌原蛋白基因在鱼类肌肉中表达的潜在机制尚不清楚，有待进一步研究。
- 3.Glu对鱼类抗氧化酶基因表达的上调可能是由于激活了调节抗氧化酶基因的信号分子。可能是谷氨酸调节Nrf2信号通路的结果。
4. 脂质积累和肌肉多汁性之间的关系；肌肉中胶原蛋白含量与肌肉韧性之间的关系；肌肉pH值和乳酸含量的关系。



4

结论与思考

结论

本研究表明，通过调节肌源性调节因子(*Myf5*, *MyoD*, *Mrf4*, 和 *MyoG*)和脂质代谢基因(*FAS*, *ACC*, *HSL* 和 *LPL*) mRNA表达促进蛋白质和脂肪合成。

此外，补充谷氨酸还可以通过减少氧化损伤，提高鱼肌肉的非酶和酶的抗氧化能力来改善肌肉质量。肌肉抗氧化酶的活性的提高可能是谷氨酸调节Nrf2信号通路的结果。

思考

01

本文就功能性氨基酸Glu的添加对建鲤肌肉品质的影响进行了分析，测定了营养价值、质构特性、肌肉生长、脂质代谢、抗氧化能力相关指标，通过阅读对相关信号通路有了一定的了解。

02

此研究可增加肌纤维组织学实验，进一步说明补充Glu对改善肌肉品质的影响。



谢谢聆听

请各位老师和同学批评指正！